

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
ANTIKÖRPERBILDUNG BEI FerkELN
NACH ORALER VAKZINATION MIT
HITZEINAKTIVIERTEM E.COLI-VOLLANTIGEN**

Feridun Dagitman

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0077

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ANTIKÖRPERBILDUNG
BEI Ferkeln NACH ORALER VAKZINATION
MIT HITZEINAKTIVIERTEM E.COLI-VOLLANTIGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Feridun Dagitman
aus
Istanbul

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. K. Walser



Tag der Promotion: 21. Februar 1975

DER FRIEDRICH - EBERT - STIFTUNG

GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>EINLEITUNG</u>	1
2. <u>SCHRIFTTUM</u>	2
2.1 Bedeutung der humoralen Antikörper für die Entwicklung oraler Impfstoffe gegen Erreger bakterieller Darminfektionen	2
2.2 Methoden für den Nachweis humoraler Antikörper nach oraler Impfung	3
2.3 Antikörperbildung bei oraler Immunisierung gegen verschiedene Bakterienarten	6
2.4 Einfluß der Impfstoffart auf die Antikörperbildung bei oraler Immunisierung	6
2.5 Einfluß von Impfschema, Impfdosis und Applikationsmodus auf die Antikörperbildung bei oraler Immunisierung	8
2.6 Unterschiede in der Antikörperbildung nach oraler Immunisierung bei verschiedenen Spezies	10
3. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	21
3.1 <u>Material und Methoden</u>	21
3.1.1 Versuchstiere	21
3.1.2 Impfstoff	21
3.1.3 Immunisierung	22

	Seite
3.1.4 Serumgewinnung	22
3.1.5 Indirekte Hämagglutination	22
3.1.5.1 Antigenherstellung	22
3.1.5.2 Hammelerythrozyten	25
3.1.5.3 Ansatz der Reaktion	25
3.2 <u>Versuche und Ergebnisse</u>	27
3.2.1 Einfluß unterschiedlich hergestellter Antigene auf die Empfindlichkeit der indirekten Hämagglutination	27
3.2.2 Serologische Untersuchungen nach oraler Impfung mit E.coli-Antigenen	30
4. <u>BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE</u>	38
5. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	40
6. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	42

1. EINLEITUNG

Trotz jahrzehntelanger Forschung stellen die durch E.-coli hervorgerufenen Erkrankungen auch heute noch für die Schweinehaltung eine Belastung dar. Besonders gefährdet sind die Tiere in den ersten 3 Lebenswochen. Mittlerweile sind zwar sehr unterschiedliche Bekämpfungsverfahren entwickelt worden, restlos befriedigen konnte aber davon bisher noch keines.

Seit der Erweiterung der Kenntnisse über die Pathogenese der E.coli-Erkrankungen und die lokalen Schutzmechanismen innerhalb des Darmes hat es nicht an Versuchen gefehlt, Tiere durch orale Immunisierung gegenüber Erkrankungen durch E.coli widerstandsfähig zu machen (s. Schrifttum).

In letzter Zeit gehen die Bestrebungen dahin, die Tiere durch eine aktive orale Immunisierung schon während der Neugeborenenphase möglichst frühzeitig zu schützen. Es wurde mir die Aufgabe gestellt, zu überprüfen, ob eine orale Schutzimpfung mit E.coli bei neugeborenen Ferkeln zur Bildung von Serumantikörpern führt.

2. SCHRIFFTUM

2.1 Bedeutung der humoralen Antikörper für die Entwicklung oraler Impfstoffe gegen bakterielle Darminfektionen

Die Entwicklung oraler Impfstoffe ist eng mit der postvakzinalen Antikörperbildung bzw. -bestimmung verbunden. Lange Zeit war die Höhe des Antikörpertiters nach Antigenzufuhr das wichtigste Kriterium für die Bewertung einer Impfmethode. Heute weiß man dagegen, daß der Antikörpertiter allein nicht ausschlaggebend ist für die Wirksamkeit einer Impfung. Die orale Vakzination erwies sich zwar in Tier- und Feldversuchen als wirksam, postvakzinale Antikörper konnten aber nur unregelmäßig und in niedrigem Ausmaß nachgewiesen werden. So hatte die orale Immunisierung trotz überzeugender praktischer Impferfolge lange Zeit keine Möglichkeit, von der Mehrzahl der Forscher anerkannt zu werden (7).

Eine Ausnahme bildete die französische Schule unter BESREDKA (5, 6). Von ihr ging ein starker Einfluß auf die weitere Entwicklung der oralen bzw. lokalen Immunisierung aus (7). In zahlreichen Tier- und Feldversuchen konnte BESREDKA die Wirksamkeit oraler Impfungen unter Beweis stellen. Dennoch gelang es auch ihm nicht, dieser Form der Immunisierung entscheidendes Gewicht zu verleihen. Er schadete ihr vielmehr sogar in dem Bestreben um allgemeine Anerkennung als wirksame Impfmethode, indem er allein auf den praktischen Impferfolgen seine Theorie der lokalen Immunität aufbaute

und ihre Richtigkeit mit naturwissenschaftlichen Methoden nicht bewies (7). Die orale Immunisierung wurde dadurch zunächst gegenüber der seinerzeit experimentell besser fundierten parenteralen Impfung in den Hintergrund gedrängt.

Erst nachdem sich die Auffassung einer allgemeinen Immunitätsreaktion nach lokaler Immunisierung durchsetzte, wurde der oralen Impfung wieder vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt. Der Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung wurde auch durch den Nachweis spezifischer, humoraler Antikörper im Anschluß an eine orale Impfung geliefert.

Einen Überblick über die Ergebnisse serologischer Untersuchungen, die bisher nach einer oralen Immunisierung gegen bakterielle Darminfektionen durchgeführt worden sind, geben Tabelle 1 und die folgende Literaturzusammenstellung.

2.2 Methoden für den Nachweis humoraler Antikörper nach oraler Impfung

Bei einer oralen Immunisierung gegen bakterielle Darminfektionen wurden am häufigsten die agglutinierenden Antikörper bestimmt. Weniger Beachtung wurde dem Nachweis komplementbindender und präzipitierender Antikörper geschenkt (Tab. 2).

Die einfachste Nachweismethode für spezifische Agglutinine stellt der Agglutinationstest dar. Er wurde vorwiegend bis zum Jahre 1960 für die Untersuchungen herangezogen (4-6, 9-17, 19, 20, 24-29, 31, 32, 34-37, 39, 40, 43, 45, 50, 51,

57, 59-61, 65-68, 77-79, 81, 82, 84, 85, 87, 88). Da die Empfindlichkeit der Reaktion nicht sehr groß ist (18, 58, 78), fielen die Ergebnisse sehr unterschiedlich aus und erwiesen sich nicht immer als reproduzierbar. Nach Einführung anderer Antikörperrnachweismethoden in die Bakteriologie wurde die Agglutination nur noch selten (18, 22, 41, 44, 48, 53, 62, 86) für die Bestimmung von Antikörpern nach oraler Immunisierung verwendet.

Eine empfindliche Methode zum Nachweis von Antikörpern gegen bakterielle Antigene stellt die von NETER et al. (58) entwickelte indirekte Hämagglutination dar. Mit dieser Sero-technik sind noch Antikörpertitrationsen möglich, wenn die konventionelle Bakterienagglutination versagt. So wurde bei Antikörperuntersuchungen nach oraler Immunisierung in den letzten Jahren praktisch nur noch diese Methode angewendet (1, 2, 18, 41, 46, 47, 49, 52, 55, 63, 72, 74, 75, 76). Mit Hilfe der indirekten Hämagglutination konnte auch Klarheit über das Auftreten spezifischer Antikörper nach einer Schluckimpfung mit Bakterienantigenen geschaffen werden.

HERING und MOCHMANN (30) übernahmen und modifizierten für ihre serologischen Untersuchungen die von FAGRAEUS et al. (21) zum Nachweis von Virusantigenen beschriebene Methode der "mixed haemadsorption". Sie stellten fest, daß die mit der gemischten Hämadsorption im Anschluß an eine orale Impfung mit E.coli erhaltenen Antikörpertiter noch wesentlich höher lagen als die mit der indirekten Hämagglutination

erfaßten Titer. Die Reaktivität der gemischten Hämadsorption war aber gegenüber der indirekten Hämagglutination nicht wesentlich gesteigert. Die Resultate der gemischten Hämadsorption entsprachen denen der indirekten Hämagglutination, nur lagen sie auf einem höheren Titerniveau (64).

Neben dem Nachweis agglutinierender Serumantikörper wurden gelegentlich auch nach oraler Immunisierung gegen bakterielle Darminfektionserreger Untersuchungen auf komplementbindende (33, 34, 35, 39, 48, 84) und präzipitierende (33, 35, 36) Antikörper vorgenommen. Nur LODENKÄMPFER (48) konnte mit der Komplementbindungsreaktion bei täglich über längere Zeit oral mit E.coli geimpften Personen deutliche Antikörperanstiege feststellen. In allen anderen Untersuchungen wurden keine oder nur geringe Titer gegen diese Antikörperarten nachgewiesen.

Zum Nachweis einer allgemeinen, humoralen Immunität nach oraler Immunisierung wurde gelegentlich auch der passive Schutzversuch eingesetzt (7, 28, 29, 42, 44, 45, 51, 76, 80, 86). Mit dieser Methode wurde schon zu Beginn der Versuche über die orale Immunisierung eine spezifische Antikörperbildung nachgewiesen (42, 80). Nicht immer gelang jedoch eine Reproduktion des Versuchsergebnisses. Als Versuchstiere dienten hauptsächlich Mäuse, Meerschweinchen und Hühnerembryonen. Als empfindlichstes Testobjekt für den Schutzversuch gilt danach der Hühnerembryo (86).

2.3 Antikörperbildung bei oraler Immunisierung gegen verschiedene Bakterienarten

Gezielte Untersuchungen auf das Vorhandensein spezifischer Antikörper nach oraler Vakzination wurden gegenüber folgenden Erregern bakterieller Darminfektionen durchgeführt (7, 69, 73):

1. Shigella
2. Salmonella
3. Vibrio und
4. E.coli

In der Literatur sind über die Antikörperbildung nach oraler Immunisierung gegenüber diesen vier Bakterienarten die unterschiedlichsten Angaben zu finden (Tab. 1). Die Mehrzahl der Autoren wies jedoch bei allen vier Bakterienarten nur geringe oder gar keine Antikörpertiter nach (5, 6, 9-16, 19, 20, 22-29, 31-37, 39, 40, 42-47, 50-53, 55, 57, 59-65, 68, 72, 74, 75, 77, 79-85, 87, 88). Es fanden lediglich OTTEN et al. (67) und RAUS et al. (76) bei Shigellen, DEMPE (17), DIMITRIADIS et al. (18), KAROLCEK et al. (41), RAETTIG et al. (74) und RUGE (78) bei Salmonella und KOCH et al. (44), LODENKÄMPER (48) und LODINOVA et al. (49) bei E.coli deutliche Antikörperanstiege. Bei der oralen Immunisierung gegen Vibrio cholerae stellten nur AGARWAL et al. (1, 2) deutliche Antikörpertiter fest.

2.4 Einfluß der Impfstoffart auf die Antikörperbildung bei oraler Vakzination

Die bisher zur oralen Immunisierung gegenüber Erregern bakterieller Darminfektionen verwendeten Schluckvakzinen lassen sich drei verschiedenen Gruppen von Impfstoffen zuordnen:

1. Lebendimpfstoffe (12, 19, 28, 44, 49, 51, 52, 53, 76)
2. Extraktimpfstoffe (31, 53, 55, 64, 76)
3. Impfstoffe aus inaktivierten Bakterien (1, 2, 4-6, 9-19, 22-29, 32-37, 40-47, 50, 57, 62, 63, 65, 67, 68, 70-72, 74, 75, 77, 78, 80-88).

Die Lebendimpfstoffe enthielten entweder unveränderte oder Streptomycin-abhängige Bakterienstämme. Bei der 2. Gruppe von Impfstoffen handelte es sich um Extrakte von Bakterien, die mit Natriumdesoxycholat oder nach Boivin hergestellt worden waren. Zur Gewinnung der inaktivierten Impfstoffe wurden chemische oder physikalische Methoden eingesetzt. Als gebräuchlichste physikalische Methode wurde die Wärme- oder Hitzeinaktivierung verwendet, während für die chemische Inaktivierung am häufigsten Aceton oder Formalin gewählt wurde. Vergleichende Untersuchungen über die Antikörperbildung nach oraler Impfung mit den verschiedenen Impfstoffarten wurden relativ selten durchgeführt. RAUS et al. (76) prüften die Antikörperbildung nach einer Schluckimpfung mit verschiedenen präparierten Shigellen. Bei den Impfstoffen handelte es sich um eine Boivin-Extrakt-Vakzine, eine formalin- oder chrominaktivierte Korpuskulärvakzine und eine Lebendvakzine aus *Shigella flexneri*-Bakterien. Die höchsten Antikörpertiter

finden sie nach der Immunisierung mit dem Extrakt-Impfstoff. Die Antikörpertiter lagen bei dieser Impfstoffart bei 1 : 400, während mit anderen Impfstoffarten nur Titer um 1 : 100 erzielt wurden.

MOCHMANN et al. (53) untersuchten vergleichend einen Natrium-desoxycholat-Extrakt-Impfstoff und eine hitzeinaktivierte Korpuskulärvakzine auf ihre antikörperbildende Wirkung. In den Ergebnissen zeigte sich kein Unterschied zwischen den Impfstoffen. KOCH et al. (44) vertreten den Standpunkt, daß in der Agglutininbildung, im passiven Schutzversuch und in der Serumbakterizidie keine Unterschiede zwischen hitzeinaktivierten Korpuskulärvakzinen und Lebendimpfstoffen aus Streptomycin-abhängigen Bakterienstämmen bestehen. Zu gleichartigen Ergebnissen führte auch die orale Immunisierung mit einer alkohol- und hitzeinaktivierten Schluckvakzine (82).

2.5 Einfluß von Impfschema, Impfdosis und Applikationsmodus auf die Antikörperbildung bei oraler Vakzination

Den größten Einfluß auf die Wirksamkeit einer oralen Immunisierung haben Impfschema und Impfdosis. Dies ergaben hauptsächlich Untersuchungen mit dem aktiven Schutzversuch und weniger mit der Antikörperbestimmung. Als bestes Impfverfahren erwies sich im Belastungstest die Verteilung der Gesamtimpfdosis auf mehrere Tage. In den Modellversuchen wurden dabei mit einer zehnmaligen Immunisierung an 10 aufeinanderfolgenden Tagen die besten Ergebnisse erzielt (46,

54, 70, 71). Ob dies auch für die Antikörperbildung zutrifft, wurde nicht entsprechend untersucht. Nur von KAROLCEK et al. (41) wird berichtet, daß die Bildung von spezifischen humoralen Antikörpern bei einer einmaligen Verabfolgung der Gesamtdosis ähnlich erfolgte wie bei der dreimaligen Gabe des Impfstoffes. Das würde bedeuten, daß für die Anregung zur Ausbildung der humoralen Immunität ein anderes Immunisierungsverfahren günstiger wäre als für die, im oralen Belastungsversuch hauptsächlich geprüfte, lokale Immunität.

Einig sind sich alle Untersucher darin, daß bei der oralen Immunisierung höhere Dosen erforderlich sind, um die gleich hohen Antikörpertiter zu erhalten, als bei der parenteralen Impfung. Dies ist vor allem auf den erheblichen Verlust, den das oral eingeführte Antigen während der Intestinalpassage erfährt (68), zurückzuführen. RAETTIG und BUSE (72) haben in Grundlagenuntersuchungen an der Maus die Frage nach der optimalen Antigendosierung untersucht. Sie prüften vergleichend die Beziehung zwischen Dosis und Antikörpertiter nach oraler bzw. parenteraler Immunisierung. Dabei stellten sie fest, daß die Titerhöhe nach parenteraler Antigenzufuhr um das zwei- bis dreifache höher lag als nach oraler Applikation, wenn die Impfdosis für die orale Impfung zwanzigmal höher lag. Um gleich hohe Antikörpertiter zu erzielen, muß die Dosis des oral eingegebenen Antigens ca. 100mal höher liegen als die des parenteralen Impfstoffes. Ab einer bestimmten Grenzdosis scheint aber eine Steigerung der Antikörperbildung nicht mehr möglich zu sein. KOCH et al.

(44) konnten trotz einer Erhöhung der Impfstoffdosis um 1 - 2 Zehnerpotenzen auf 10^{11} bzw. 10^{12} keinen weiteren Anstieg der Antikörpertiter bei Mäusen erreichen.

Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß des Applikationsmodus auf die Antikörperbildung liegen nicht vor. Bei den meisten Versuchen wurde das Antigen mittels Schlundsonde unter Umgehung des oberen Verdauungstraktes oral verabreicht.

Daneben wurde beim Mensch, beim Ferkel, beim Huhn und bei Tauben mit wechselndem Erfolg auch die Verabreichung des Impfantigens über das Futter bzw. Tabletten praktiziert (17, 63, Tab. 1). PORTER et al. (63) konnten beim Ferkel nur nach Verabreichung mit der Sonde, nicht aber mit dem Futter, postvakzinale Antikörper feststellen. Nach oraler Impfung mit *Salmonella gallinarum-pullorum* über das Trinkwasser wies DEMPE (17) bei Kanarienvögeln ein deutliches Ansteigen der Antikörper im Serum nach. Bei Mäusen waren dagegen nach Trinkwasserimpfung mit einer Lebendvakzine keine meßbaren Antikörpertiter im Serum festzustellen (44).

2.6 Unterschiede in der Antikörperbildung nach oraler Immunisierung bei verschiedenen Spezies

Unterschiede in der Antikörperbildung nach oraler Immunisierung ergeben sich auch bezüglich der verschiedenen Tierarten, bzw. dem Menschen. Beim Meerschweinchen, Kaninchen und Menschen wurde zwar im älteren Schrifttum über unter-

schiedliche Ergebnisse berichtet (Tab. 1), aber in jüngeren Untersuchungen reagierten diese Spezies sowie das Huhn nach fünf- bzw. zehnmaliger Impfung mit deutlichen Titeranstiegen (1, 2, 18, 44, 74). Nur LIETZ (47) stellte beim Menschen sehr schwache Antikörpertiter fest.

Unregelmäßige, schwache oder keine Antikörperanstiege waren bei Mäusen, Kälbern und Ferkeln nachzuweisen (44, 46, 47, 55, 63, 64, 72, 74, 75). Diese verschiedenen Reaktionsweisen in der Antikörperbildung gegenüber bakteriellen Antigenen bei den verschiedenen Spezies verbieten eine Übertragung der Ergebnisse von einer Tierart auf eine andere (74).

Einheitlich sind die Ergebnisse erst nach einer homologen Belastung. Hier kam es bei allen bereits durch orale Impfung vorbehandelten Spezies zu einem deutlichen Antikörperanstieg im Sinne einer Boosterreaktion (18, 29, 44, 45, 46, 55, 60, 64, 72, 74, 75).

Tabelle 1

Überblick über die durchgeführten serologischen Untersuchungen anderer Autoren im Anschluß an eine orale Immunisierung gegenüber Erregern bakterieller Darminfektionen

ORALE IMMUNISIERUNG										SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG (Antikörpertiter)	
Jahr	Autor	Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung		nach der Testinfektion	
								Ergebnis*	Art.u. Dosis		Ergebnis
1892	Klemperer (42)	V.cholerae	Selbstversuch	Totvakzine: 2 ^h bei 70° C inaktiviert	503 ml	15 x in 6 Wo.	PS-T(1)	+	n.d.	n.d.	
1893	Sawtschenko et al (80)	V.cholerae	Selbstversuch	Totvakzine: 2 ^h bei 70° C inaktiviert	0,23-2,3 g	27 x in 8 Wo.	PS-T	+	n.d.	n.d.	
1904	Wakulenko (87)	V.cholerae Salmonella	Kaninchen	Totvakzine	0,5-1 l	14 x im Abst. v. 2-3 Tagen	AG-T(2)	+	n.d.	n.d.	
1905	Bertarelli (4)	Salmonella	Hund	Totvakzine: hitzeinaktiviert	-?	10 Tage	AG-T	(+)	n.d.	n.d.	
1905	Gabritschewski (25)	Salmonella	Kaninchen	Totvakzine: bei 60° C inaktiviert	15-20 ml	1 x	AG-T	+	n.d.	n.d.	
1905	Zeitlin (88)	Shigella	Selbstversuch	Totvakzine: bei 60° C inaktiviert	2 ^h , 6 mg	6 x in 4 Wo.	AG-T	(+)	n.d.	n.d.	
1906	Loeffler (50)	S.typhi murium	Feldmaus	Totvakzine: 1 ^h bei 70° inaktiviert	-?	11 x in 15 Tagen	AG-T	(-)	n.d.	n.d.	

* (-): keine Antikörperbildung
(+): sehr schwacher Titeranstieg
++ : deutlicher Titeranstieg
n.d. : nicht durchgeführt

		O R A L E I M M U N I S I E R U N G				SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG (Antikörpertiter)					
Jahr	Autor	Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung		nach der Testinfektion	
								Ergebnis	Art u. Dosis	Ergebnis	Art u. Dosis
1908	Chvostek (12)	Shigella	Kaninchen	Totvakzine Lebendvakzine	-?	4-20 x im Abst. v. 8 Tagen	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
								(-)			
1918	Besredka (5)	Shigella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	-?	2 x im Abst. v. 8 Tagen	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
1919	Besredka (6)	Shigella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	-?	2 x im Abst. v. 8 Tagen	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
							PS-T	(-)			
1922	Masaki (51)	V.cholerae	Kaninchen	Totvakzine Lebendvakzine	-?	2 x im Abst. v. 15 Tagen	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
							PS-T	(-)			
							AG-T	(-)			
							PS-T	(-)			
1922	Ornstein (65)	Salmonella	Meerschweinchen	Totvakzine: Chloroform be- handelt, dann 1 ^h bei 56° C inaktiviert	-?	5 x im Abst. v. 8 Tagen	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
1923	Combiesoo et al. (13)	Shigella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	-?	1-4 x	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
1923	Glutoff (27)	V.cholerae	Kaninchen	Totvakzine	-?	3 Tage hinter- einander	AG-T	(-)		n.d.	n.d.
1924	Gauthier (26)	Shigella	Mensch	Totvakzine	2,25.10 ⁸ - 9.10 ⁹ Keime	3 Tage hinter- einander	AG-T	+		n.d.	n.d.
1924	Esadow (82)	V.cholerae	Mensch	Totvakzine: a) mit Alkohol b) 1 ^h bei 58° C inaktiviert	0,3-0,81 g	3-6 x	AG-T	+		n.d.	n.d.
								+			

Fortsetzung siehe nächste Seite

Jahr	Autor	ORALE IMMUNISIERUNG					SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG (Antikörpertiter)			
		Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung		nach der Testinfektion
								Ergebnis	Art u. Dosis	Ergebnis
1926	Burke et al. (9)	Salmonella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	2,8.10 ¹¹ Keime	3 x pro Wo. 11-19 x	AG-T	+	n.d.	n.d.
1926	Horowitz- Wlossowa et al. (35)	V.cholerae	Meerschweinchen	Totvakzine: in Glucoseboull- lon autolysiert	3 ml	2 x im Abst. v. 3 Tagen	AG-T ⁽¹⁾ Präc. ⁽¹⁾ KBR ⁽²⁾	(-) (-) (-)	n.d.	n.d.
1926	Horowitz- Wlossowa et al. (36)	V.cholerae	Meerschweinchen	Totvakzine: in Glucoseboull- lon autolysiert	2 ml	2 x im Abst. v. 3 Tagen	AG-T Präc.	(-) (-)	n.d.	n.d.
1927	Combiesco et al. (14)	Shigella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	-?- .	1-3 x im Abst. v. 7-10 Tagen	AG-T	(-)	n.d.	n.d.
1927	Engelhardt (19)	V.cholerae	Meerschweinchen	a) Lebendvakzine b) Totvakzine: 1 ^h bei 56° C inaktiviert	-?- .	3 x im Abst. v. 7 Tagen	AG-T	(-) (+)	n.d.	n.d.
1927	Otten et al. (67)	Ghigella	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	3,5-5.10 ¹⁰ Keime	3 x im Abst. v. 7 Tagen	AG-T	++	n.d.	n.d.
1929	Hoffstadt et al. (32,33,34)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	Totvakzine: hitzeinaktiviert	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T Präc. KBR	+	n.d.	n.d.
1929	Kosmodenjanski (45)	S.paratyphi	Taube	Totvakzine: 1 ^h bei 58° C inaktiviert	1-10.10 ⁸ Keime	2-3 Tage hinter- einander	AG-T PS-T	(-) (-)	oral 1-10 LD	++ ++

Präc. (1 : Präcipitation

KBR (2 : Komplementbindungsreaktion

Jahr	Autor	O R A L E I M M U N I S I E R U N G					S E R O L O G I S C H E U N T E R S U C H U N G (Antikörpertiter)		
		Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung	
								Ergebnis	Art u. Dosis
1929	de Mello et al. (16)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	Gallelvakzine	-?- 15 ml	-?- 3 Tage hinter- einander	AG-T	(-)	n.d.
1930	Istrati et al. (39)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	-?- Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	15·10 ¹⁰ Keime 2·10 ¹¹ Keime	3 Tage hinter- einander	AG-T KBR	(+) (-)	n.d.
1930	Ottolenghi et al. (68)	S.typhi u. S.paratyphi	Kaninchen Mensch	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	15·10 ¹⁰ Keime 2·10 ¹¹ Keime	3 Tage hinter- einander	AG-T	+	n.d.
1932	Ruge (78)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	TAB-Vakzine	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T	+	n.d.
1934	Vaccarezza et al. (85)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	TAB-Vakzine	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T	++	n.d.
1938	Crimm et al. (15)	S.typhi u. S.paratyphi	Mensch	Typhoral ^R	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T	+	n.d.
1938	Gwan (28)	E.coli	Kaninchen	a) Lebendvakzine b) Totvakzine: 1 ^h bei 70° C inaktiviert	-?- 3 x im Abst. v. 3 Tagen	3 x im Abst. v. 3 Tagen	AG-T PS-T	+	n.d.
1938	Gwan (29)	E.coli	Kaninchen	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	240 ml	3 x in 6 Tagen	AG-T PS-T	+	i.v. 1 LD ++
1938	Jantria (40)	Salmonella	Meerschweinchen	Totvakzine: mit Pepsin-HCl, Pankreatin oder Formalin inakt.	-?- 5 x im Abst. v. 5 Tagen	5 x im Abst. v. 5 Tagen	AG-T	(-) bis +	n.d.
1943	Mrugowsky (57)	S.typhi u. S.paratyphi Shigella	Mensch	Typhoral ^R Ruhr-Orovakzin ^B	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T	(+)	n.d.

Fortsetzung siehe nächste Seite

O R A L E I M M U N I S I E R U N G							SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNG (Antikörpertiter)			
Jahr	Autor	Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung		nach der Testinfektion
								Ergebnis	Art u. Dosis	Art u. Ergebnis
1948	Burrows et al. (10)	V.cholerae	Meerschweinchen	Kommerzielle-O- Vakzine	20 mg	1 x	AG-T	+	n.d.	n.d.
			Mensch (parent. grundimm.)		300 mg	3 x im Abst. v. 8 Tagen	AG-T	+	n.d.	n.d.
1962	Freter (23)	V.cholerae	Mensch (parent. grundimm.)	Totvakzine: 10-20'i. Wasser- dampf inakt.	4,5 g	Täglich 4 Wo.	Farr- Test	+	n.d.	n.d.
1964	Lodenkämper (48)	E.coli	Mensch	Nicht besonders abgetötet	1-5 g	Täglich über längere Zeit	AG-T	++	n.d.	n.d.
							KBR	++		
1964	Raus et al. (76)	Sh.flexneri	Maus	a) Boivin-Extr. b) Boivin-Ab- sorbat-Vakzine c) Formolvakz. d) Chromvakz. e) Lebendvakz.	0,2-25.10 ⁹ Keime	2-5 x im Abst. v. 3-7 Tagen	Coombs- Test	a) ++ b) (+)	n.d.	n.d.
							IHA-T ⁽¹⁾			
							PS-T	c) + d) +		
								e) +		
1965	Karolček et al. (41)	S.typhi	Mensch	Totvakzine: 1 ^h bei 56° C inaktiviert	3.10 ¹¹ Keime	3 Tage hinter- einander	AG-T	++	n.d.	n.d.
							IHA-T	++		
1965	Mel et al. (52)	Sh.flexneri	Mensch	Polyvalente Le- bendvakzine (Streptomycin- dependent)	1,5-3,5.10 ¹¹	3 x	IHA-T	(-)	n.d.	n.d.
1965	Piringer (62)	E.coli	Maus	Totvakzine: Formol, Aceton u. anschließend 1 ^h bei 60° C inaktiviert	5-50.10 ⁹ Keime	3 x im Abst. v. 6-7 Tagen	AG-T	+	n.d.	n.d.

IHA-T⁽¹⁾ : indirekte Hämagglutination

Fortsetzung siehe nächste Seite

Jahr	Autor	O R A L E I M M U N I S I E R U N G					S E R O L O G I S C H E U N T E R S U C H U N G (Antikörpertiter)		
		Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung	
								Ergebnis	Art u. Ergebnis Dosis
1965	Stellmacher et al. (83)	E.coli	Ferkel	Totvakzine	45 ml	3 x im Abst.v. 8 Tagen	AG-T	(-)	n.d. n.d.
1965	Vládoňau et al. (86)	S.typhi u. S.paratyphi A+B	Kind	Totvakzine: 1 ^h bei 56° C inaktiviert	4,5-18,10 ¹¹ Keime	3 Tage hinter- einander	AG-T PS-T	+ ++	n.d. n.d.
1967	Finger et al. (22)	S.typhi u. S.paratyphi A+B	Mensch	TAB-Vakzine	3 Tabletten	3 Tage hinter- einander	AG-T	(-)	n.d. n.d.
1967	Lietz et al. (46)	E.coli O 111:B 4:H 12	Maus	Totvakzine: 1 ^h 60° C inaktiviert	7,75·10 ⁹ Keime	10 Tage hinter- einander	IHA-T	(+)	i.p. ++
1967	Lodínová et al. (49)	E.coli O 83	Kind	Lebendvakzine	6·10 ⁹ Keime	3 x pro Wo. 4 Wo. lang	IHA-T	++	n.d. n.d.
1967	Mochmann et al. (53)	E.coli O 111	Kaninchen Ratte	Totvakzine: a) Natriumdes- oxycholat-Extr. b) Formol oder Aceton inakt. Lebendvakzine	5,4-86,4, 10 ⁹ Keime	12-13 x	AG-T PS-T	a) + b) +	n.d. n.d.
1967	Baettig et al. (72)	S.typhi murium	Maus	Totvakzine: 75' bei 60° C od. 10' bei 100° C inaktiviert	2,5·10 ⁹ Keime	10 x im Abst. v. 2 Tagen	IHA-T	(+)	oral ++
1968	Mochmann et al. (55)	E.coli O 111 u. O 55	Maus	Totvakzine: Natriumdesoxy- cholat-Extrakt	2-3·10 ¹⁰ Keime	10 Tage hinter- einander	IHA-T	(-)	i.p. ++

Fortsetzung siehe nächste Seite

Jahr	Autor	O R A L E I M M U N I S I E R U N G						S E R O L O G I S C H E U N T E R S U C H U N G (Antikörpertiter)		
		Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung		nach der Testifikation
								Ergebnis	Art u. Dosis	
1969	Koch et al. (44)	E.coli O 111 : B 4	Maus	a) Begrenzt ver ¹¹ - 10 ¹² mehrungsfähig u. Keime		10 Tage hinter- einander	AG-T	(-)	i.p. 20. LD ₅₀	++
			Kaninchen	Streptomycin- dependent b) Totvakzine: 2h bei 56° C inaktiviert				++	n.d.	n.d.
1969	Lietz (47)	E.coli O 125: B 45: H 19	Maus	Trockenvakzine*	10 Tabletten	10 Tage hinter- einander	IHA-T	(+)	n.d.	n.d.
1969	Ocklitz et al. (64)	E.coli O 111 u. O 55	Maus	Totvakzine: Natriumdesoxy- cholat-Extrakt	2-3.10 ¹⁰ Keime	10 Tage hinter- einander	GHA-T ⁽¹⁾	(-)	i.p.	++
			Maus	Totvakzine: 75' bei 60° C inaktiviert	2.5.10 ⁹ Keime	10 x im Abst. v. 2 Tagen	IHA-T	(+)	oral 0,2.10 ⁹ Keime	++
1970	Raettig et al. (74)	S.typhi murium	Meerschweinchen	Totvakzine: 3' bei 100° C inaktiviert	2.10 ¹⁰ Keime	10 x im Abst. v. 2 Tagen	IHA-T	++	i.p. 0,5.10 ⁷ Keime	++
			Kaninchen	Totvakzine: hitzeinakt.	1,4.10 ¹⁰ Keime	7 Tage hinter- einander	IHA-T	++	i.c. 0,5.10 ⁸ Keime	++
			Kalb	Totvakzine: 3' bei 100° C inaktiviert	2.10 ¹² Keime	10 Tage hinter- einander	IHA-T	(+)	oral 2.10 ⁷ Keime	++

* : v. Behringwerke

GHA-T⁽¹⁾ : gemischte Hämaadsorptionstest

Jahr	Autor	O R A L E I M M U N I S I E R U N G					S E R O L O G I S C H E U N T E R S U C H U N G (Antikörpertiter)			
		Impfstamm	Versuchs- objekt	Impfstoff	Gesamt- dosis	Impfmodus	Methode	nach der Immunisierung Ergebnis	nach der Testinfektion Art u. Dosis	Ergebnis
1971	Dimitriadis et al. (18)	S.typhi murium	Huhn	Totvakzine: 3' bei 100° C inaktiviert	5.10 ¹⁰ Keime	5 x im Abst. v. 2 Tagen	IHA-T AG-T Agargel- Präc.	++ + +	oral 9.10 ⁹ Keime	++ ++ ++
1972	Agarwal et al. (1)	V.cholerae	Kaninchen	Totvakzine: Acetoninakt.	130 mg	5 x, 2 x pro Wo.	IHA-T	++	n.d.	n.d.
1972	Agarwal et al. (2)	V.cholerae	Mensch	Totvakzine: 1 ^h bei 60° C inaktiviert	50 ml	5 x, 2 x pro Wo.	IHA-T	++	n.d.	n.d.
1972	Raettig et al. (75)	S.typhi murium	Kalb	Totvakzine: 3' bei 100° C inaktiviert	10 ¹² Keime	10 Tage hinter- einander	IHA-T	(+)	oral 2.10 ⁷ Keime	++
1973	Porter et al. (63)	E.coli O 141	Ferkel	Totvakzine: 30' bei 125° C inaktiviert	a) ad libid. als Futter- zusatz b) 110 ml	10 Tage hinter- einander	IHA-T	a) (-) b) +	n.d.	n.d.

Tabelle 2

Zum Antikörper-Nachweis nach oraler Immunisierung gegenüber
Erregern bakterieller Darminfektionen verwendete Methoden

Methode	Versuchsobjekt	Literatur
<u>1. Direkt</u>		
Agglutination	Ferkel, Huhn, Hund, Maus Kaninchen, Mensch, Meerschweinchen, Ratte, Taube	4-6, 9-18, 19, 20, 22 24-29, 31, 32, 34-37, 39-41, 43-45, 48-50, 51, 53, 57, 59-62, 65- 68, 77-79, 81, 82, 84-88
Indirekte Hämagglutination	Ferkel, Huhn, Kalb Kaninchen, Maus, Meerschweinchen, Mensch	1, 2, 18, 41, 46, 47, 49, 52, 55, 63, 72, 74-76
Gemischte HämadSORPTION	Maus	64
Komplementbin- dungsreaktion	Meerschweinchen, Mensch	33-35, 39, 48, 84
Präcipitation	Meerschweinchen, Mensch	33, 35, 36
Coombs-Test	Maus	76
Farr-Test	Mensch	23
Agargel- Präcipitation	Huhn	18
<u>2. Indirekt</u>		
Passiver Schutz- test an: Maus	Kaninchen, Maus, Mensch, Ratte	7, 44, 53, 76, 86
Meerschweinchen	Kaninchen, Mensch, Taube	28, 29, 42, 45, 51, 80
Hühnerembryo	Mensch	86

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Versuchstiere

Für die Untersuchungen standen insgesamt 96 neugeborene Ferkel zur Verfügung. Die Tiere wurden konventionell aufgezogen. Sie erhielten Kolostrum und blieben während der Versuche beim Muttertier.

3.1.2 Impfstoff

Die Impfstoffherstellung erfolgte mit zwei E.coli-Stämmen¹⁾ O 8 : K 87, 88 : H 19 und O 139 : K 82. Die Keime wurden in einem Fermenter²⁾ vermehrt, der mit Rührwerk und Bodenbelüftung ausgestattet war.

Nach 18stündiger Bebrütung bei automatischen pH (7,5) und O₂-Regelung (70 %) wurde die Bakteriensuspension 1 Stunde bei 3000 UpM³⁾ zentrifugiert. Zur anschließenden Keimzahlbestimmung wurde das Plattenverfahren verwendet. Die Inaktivierung der mit physiologischer NaCl-Lösung auf ca. 10¹⁰

1) Für die Überlassung der Stämme danken wir dem Statens Seruminstitut, Kopenhagen

2) Mikroferm Fermentor MF-128 S, New Brunswick (24 l Fassungsvermögen)

3) Zentrifuge: Mistral 6 L (MSE)

Keime / ml eingestellten Bakteriensuspension erfolgte im Erlenmeyerkolben (1 l Fassungsvermögen) für 3 Minuten bei 98° C im Wasserbad. Mit diesem hitzeinaktivierten E.coli-Vollantigen wurde geimpft.

3.1.3 Immunisierung

In allen Versuchen wurde der Impfstoff einmal täglich innerhalb der ersten zehn Lebenstage den Ferkeln mit einer Sonde in die Backentasche appliziert.

3.1.4 Serumgewinnung

Das Blut für die serologischen Untersuchungen wurde aus der Vena cava cranialis der Ferkel entnommen. Die Blutproben wurden nach der Entnahme über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das abgesetzte Serum wurde anschließend 10 Minuten bei $3000 \text{ UpM}^{1)}$ zentrifugiert und jeweils bis zur Durchführung der indirekten Hämagglutination bei -20° C aufbewahrt.

3.1.5 Indirekte Hämagglutination

3.1.5.1 Antigenherstellung

Als Ausgangsmaterial für die Herstellung der E.coli O 8 und O 139-Antigene dienten Abschwemmungen 18stündiger Kulturen

1) Zentrifuge: Martin Christ, Typ: UJ 3

von Nähragarplatten. Diese Bakteriensuspensionen hatten einen Titer von 10^{10} Keime pro ml. Zur Antigenherstellung wurden folgende Verfahren angewendet:

a) Herstellung nach NETER et al. (58)

Die Bakteriensuspension wurde 1 Stunde im Dampftopf erhitzt (1,2 atü, 120° C). Der durch Abzentrifugieren (1 Stunde bei 3000 UpM) gewonnene Überstand wurde anschließend 1 Stunde bei einer Temperatur von 4° C in der Ultrazentrifuge¹⁾ bei 22.000 UpM zentrifugiert, seitzfiltriert und in kleinen Portionen bei -20° C aufbewahrt.

b) Herstellung nach BRODHAGE (8)

Die Bakteriensuspension einer Roux-Schale wurde mit 5 g reinem, kristallinem Harnstoff versetzt und unter gelegentlichem Schütteln 72 Stunden bei 37° C im Brutschrank gehalten. Danach wurden Sterilitätsproben angelegt und das Bakterien-Harnstoff-Gemisch durch Filterpapier filtriert. Das Filtrat wurde 58 Stunden gegen gepufferte NaCl-Lösung (pH 7,0) dialysiert. Die dialysierten Extrakte wurden dann mit dem gleichen Puffer (30 ml / Ausgangsmaterial einer Roux-Flasche) verdünnt und bis zur Verwendung in kleinen Mengen bei -20° C gelagert.

1) Ultrazentrifuge: Beckmann / Spinco, Mod. L

c) Herstellung nach BAXI et al. (3)

Die Bakteriensuspension wurde durch Ultraschall¹⁾ desintegriert. In einem Zentrifugenglas wurden 15 ml der mit Glasperlen versetzten Bakteriensuspension 4 x 5 Minuten bei Stufe 5 beschallt. Um eine zu starke Erwärmung der Flüssigkeit zu vermeiden, wurde das Zentrifugenglas während der Beschallung in einem Eisbad gehalten. Eine zur Feststellung der Intensität der Desintegration anschließend durchgeführte Keimzählung ergab einen Titer von $1 - 7 \times 10^8$ /ml. Die Bakterienaufschwemmung mit den desintegrierten Zellen wurde 2 x 15 Minuten bei 120° C autoklaviert, danach 30 Minuten bei 3000 UpM zentrifugiert und der Überstand bei -20° C aufbewahrt.

d) Herstellung nach INGRAM (38)

Ein Volumenteil der E.coli-Bakteriensuspension wurde nach einer zweistündigen Inaktivierung im Autoklav mit 5 Volumenteilen Aceton in einem Erlenmeyerkolben (0,2 l Fassungsvermögen) gemischt. Das Gemisch wurde dann mittels Magnetrührer bis zur Koagulation gerührt und durch ein Filterpapier filtriert. Durch 3maliges Waschen mit Äther wurde es dann getrocknet und bei 4° C aufbewahrt.

10 ml einer Ausgangssuspension ergaben ca. 240 mg Trockensubstanz, die im Barbital-Puffer (pH 7,2) aufgelöst zur Anwen-

1) Ultraschallgerät: Bronson Sonifier B-12 mit Microtip

dung kam (1 mg Trockensubstanz pro ml Puffer).

3.1.5.2 Hammelerythrozyten (HE)

Das Hammelblut wurde in Alseverlösung (1 Vol. Alseverlsg. + 1 Vol. Hammelblut) aufgefangen und im Kühlschrank gelagert. Vor dem Ansatz der Reaktion wurde das Hammelblut 3 x in phosphatgepufferter NaCl-Lösung (pH 7,2) gewaschen.

Zur Sensibilisierung der Erythrozyten wurden 0,05 ml HE (100 %) mit 2,5 ml des jeweiligen Antigens versetzt und 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden die Erythrozyten 15 Minuten bei 3000 UpM abzentrifugiert, 3 x in phosphatgepufferter NaCl-Lösung gewaschen und mit gleichem Puffer auf 12,5 ml resuspendiert.

3.1.5.3 Ansatz der Reaktion

In 2er Potenzen wurde in Röhrchen eine Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums in 0,3 ml phosphatgepufferter NaCl-Lösung (pH 7,2) angelegt. Alle Seren wurden vorher 1 : 2 mit phosphatgepufferter NaCl-Lösung (pH 7,2) verdünnt und 30 Minuten bei 56° C im Wasserbad inaktiviert. Zur Vermeidung einer Isoagglutination wurden die Seren vorher mit gewaschenen HE (50 %ig) im Verhältnis 1 : 10 1 - 2 Stunden bei 37° C adsorbiert. Zu jeder Verdünnungsstufe wurde 0,3 ml sensibilisierte HE pipettiert. Unter gelegentlichem Aufschütteln wurde das Reaktionsgemisch 2 Stunden bei 37° C im Brutschrank inkubiert und über Nacht bei

Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann erfolgte die Able-
sung der Reaktion makroskopisch. Als Endtiter wurde die-
jenige Verdünnungsstufe des Serums angegeben, bei der eine
Hämagglutination mit bloßem Auge noch deutlich sichtbar
war. Die Durchschnittstiter der Ferkel wurden durch Berech-
nung des geometrischen Mittels bestimmt.

3.2 Versuche und Ergebnisse

3.2.1 Einfluß unterschiedlich hergestellter Antigene auf die Empfindlichkeit der indirekten Häm-agglutination

Der Antikörpernachweis nach einer oralen Impfung ist von der Empfindlichkeit der angewandten Serotechnik abhängig. Deshalb wurde zunächst versucht zu klären, ob sich mit der Änderung der Antigenherstellung die Sensibilität der verwendeten, indirekten Hämagglutination steigern läßt. Aus dem Schrifttum ist darüber nichts zu entnehmen.

Zu diesem Zweck wurden unter Anwendung verschiedener Methoden (s. Seite 22-25) Antigene von E.coli-Bakterien der O-Gruppe 139 hergestellt und gegen ein Kaninchen - O 139 - Immunserum ausgetestet (Abb. 1).

Die Antigenherstellung mit der Harnstoffextraktion nach BRODHAGE (8) ergab einen Titer von 1 : 64. Durch die Verlängerung der Einwirkungszeit des Harnstoffes von 3 auf 5 Tage konnte keine Verbesserung erzielt werden. Mit Koch-extrakten nach NETER et al. (58) ließen sich höhere Titerwerte (1 : 512) erzielen, die durch nochmalige Hitzebehandlung auf 1 : 4096 stiegen, wobei der zeitliche Unterschied in der nachfolgenden Wärmeeinwirkung im Autoklav zu keinen Unterschieden in der Titerhöhe führte.

Eine wesentlich geringere Empfindlichkeit zeigte dagegen

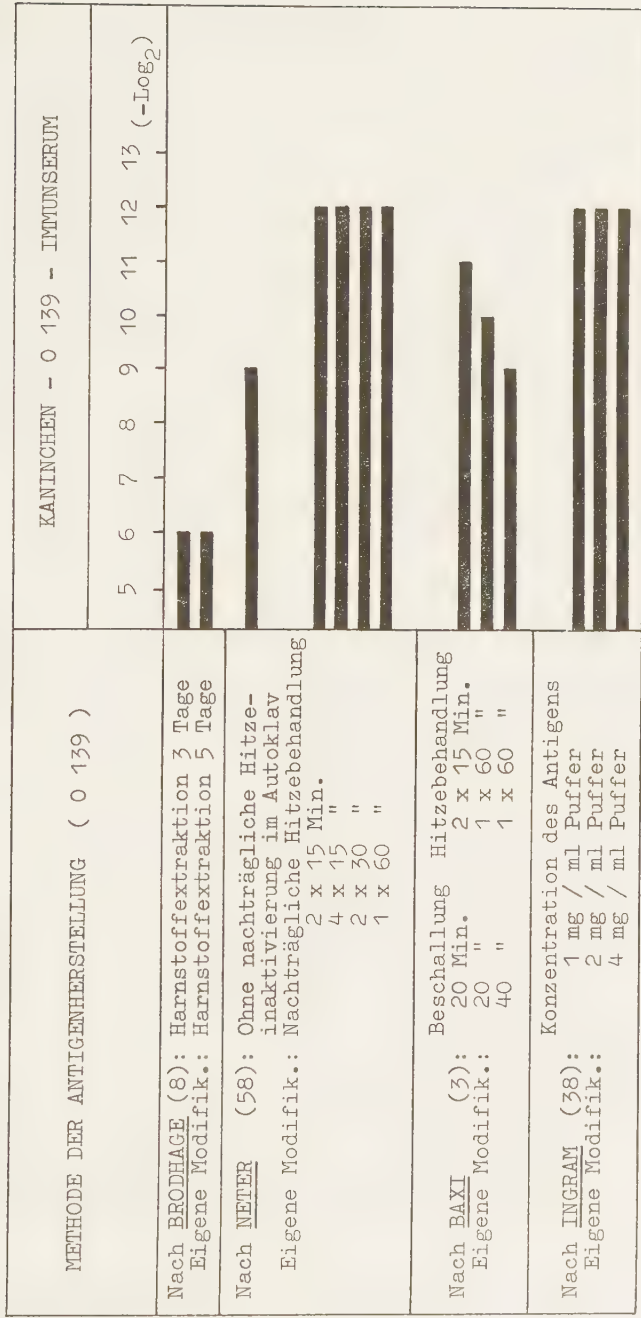
das durch Beschallung gewonnene E.coli-Antigen nach BAXI et al. (3). Dieses Verfahren wurde geprüft, weil mit dieser Antigenherstellung bei Pasteurella multocida gute Ergebnisse zu erreichen waren (3). Der Titer in der indirekten Hämagglutination betrug bei dieser Antigenherstellung 1 : 2048. Die eigenen Modifikationen hinsichtlich Beschallungs- und Hitzebehandlungszeit fielen mit 1 : 512 und 1 : 1024 noch niedriger aus. Bei der Herstellung fiel auf, daß sich die Beschallung nur unzureichend standardisieren läßt.

Nach INGRAM et al. (38) hergestelltes Antigen war ebenso gut wie das bei den eigenen Experimenten modifizierte Antigen nach NETER et al. (58). Es brachte einen Titer von 1 : 4096, ungeachtet einer Veränderung der Antigenkonzentration bei der Sensibilisierung der Erythrozyten.

Ogleich mit den Antigenen nach NETER et al. und INGRAM et al. gleichartig gute Ergebnisse zu erzielen waren, wurde wegen der ungleich besseren Standardisierung, der einfacheren und schnelleren Arbeitstechnik und des geringeren Substanzverlustes bei der Herstellung der Antigene die Methode von INGRAM et al. bevorzugt und für die Antikörpertitrationen nach oraler Impfung von Ferkeln die nach INGRAM hergestellten Antigene O 139 und O 8 verwendet.

Abb. 1

Vergleich der Hämagglutinationstiter bei unterschiedlich hergestellten Antigenen



3.2.2 Serologische Untersuchungen nach oraler Impfung mit E.coli-Antigenen

Die speziellen serologischen Untersuchungen wurden mit Seren von 64 oral vakzinierten Ferkeln und von 32 nicht-geimpften Kontrolltieren durchgeführt. Die orale Immunisierung erfolgte in zwei Versuchsreihen jeweils an den ersten zehn Lebenstagen. Während die eine Gruppe der Ferkel nur mit dem hitzeinaktivierten E.coli-Vollantigen vom Serotyp O 139 geimpft wurde, erhielt die andere Gruppe zusätzlich einen E.coli-Impfstoff vom Typ O 8. Die erste Blutprobe wurde nach der Kolostrumaufnahme (ca. 10 - 12 Stunden post partum) und vor der ersten oralen Antigen-gabe entnommen. Im weiteren Versuchsverlauf wurden am 5., 10., 20. und 30. Lebenstag die Seren mit der indirekten Hämagglutinationsreaktion auf ihren spezifischen Antikörpergehalt geprüft. Dabei wurde die Bestimmung von Antikörpern auf die O-Antikörper beschränkt. Mit der Wahl zweier unterschiedlicher E.coli-Stämme sollte ein eventueller Unterschied in der Antikörperstimulierung von zwei verschiedenen O-Antigenen verdeutlicht werden.

Die höchsten Antikörpertiter hatten die Ferkel sofort nach der Kolostrumaufnahme und damit noch vor der ersten Immunisierung. Die durchschnittlichen Titer gegen E.coli O 139 (geometrisches Mittel) von Impflingen und Kontrolltieren lagen etwa gleich bei 1 : 14 bzw. 1 : 10. Auch am 5. Tag ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen

geimpften und nichtgeimpften Tieren. Die mittleren Titerwerte fielen bei beiden Gruppen auf 1 : 3 und 1 : 3,7 ab. Während am 10. Lebenstag, also am Ende der zehnmaligen Immunisierung und 10 Tage danach am 20. Lebenstag bei den Kontrolltieren keine Antikörpertiter mehr festzustellen waren, wiesen die Impflinge noch Antikörper im Serum auf, die allerdings in sehr niedrigen Titerbereichen wie 1 : 2 und 1 : 1,2 lagen. Am 30. Lebenstag der Ferkel, also 20 Tage nach der letzten Antigenaufnahme, war sowohl bei den Impflingen als auch bei den Kontrollen ein geringfügiger Anstieg der mittleren Titerwerte zu beobachten. Die Höhe der Durchschnittstiters der Impflinge lag bei 1 : 2,3 und die der Kontrollen bei 1 : 1,5. Der Titeranstieg auch bei den nichtgeimpften Ferkeln deutet darauf hin, daß sich die Kontrolltiere mit den im Stall heimischen E.coli O 139-Bakterien auseinanderzusetzen begannen und aktiv Antikörper bildeten.

Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen mit dem Impfstamm O 139 wurden in der Abb. 2 zusammengestellt.

In ihrer Verlaufscharakteristik entsprechen die Ergebnisse der Antikörperuntersuchungen mit dem Impfantigen O 8 denen mit dem O 139-Antigen. Die höchsten Durchschnittstiters wurden auch hier nach der Kolostrumaufnahme beobachtet, wobei die passiven Antikörpertiter der Ferkel beim O 8-Antigen mit Werten von 1 : 35 bei den Impflingen und 1 : 18 bei den Kontrolltieren insgesamt höher lagen. Am 5. Tag der

Impfung gleichen sich interessanterweise die Antikörpertiter denen des O 139-Antigens an und liegen bei 1 : 3,4 bzw. 1 : 1,7. Die Kontrollen waren am 10. Tag serologisch negativ, während die oral geimpften Tiere einen mittleren Titer von 1 : 1,6 aufwiesen. Diese Titer stiegen am 20. und 30. Tag noch an und erreichten Werte von 1 : 3,8 bzw. 1 : 4. An diesen Tagen ließen sich auch wieder bei den Kontrolltieren Antikörpertiter gegenüber O 8 feststellen, die mit 1 : 2 und 1 : 2,9 aber niedriger als bei den Impfungen lagen.

Die serologischen Ergebnisse mit dem Impfantigen O 8 sind aus der Abb. 3 zu entnehmen.

Die graphischen Darstellungen der Abbildungen 2 und 3 zeigen, daß in der Höhe der Antikörpertiter kein großer Unterschied zwischen Impfungen und nichtgeimpften Kontrollen sowie zwischen den beiden Impfstämmen zu verzeichnen war. Die passiv über das Kolostrum erworbenen Antikörper fielen innerhalb der ersten 5 Lebenstage sehr stark ab und erreichten geringe Titerwerte um 1 : 3. Interessant ist, daß die Antikörper bei den Kontrolltieren bis zum 10. Tag vollständig verschwanden, während die Impflinge noch immer Antikörpertiter, wenn auch in geringen Mengen, aufzeigten. Erst ab dem 10. bzw. 20. Tag kam es wieder bei allen Tieren zu einem Anstieg der Antikörper. Dabei lagen die Titerwerte der Impflinge geringfügig über denen der Kontrolltiere, die durch natürlichen Kontakt mit den E.coli-Bakterien der gleichen Serotypen aktiv Antikörper bildeten.

Von anderen Untersuchungen über die Antikörperbildung als Folge einer oralen Immunisierung mit bakteriellen Vollantigenen (siehe Schrifttum) ist bekannt, daß die Antikörpertiter sehr niedrig bleiben. Auch spielt beim Auftreten von Erregern lokaler Darmerkrankungen die Höhe der Antikörpertiter im Blut für die Ausbildung einer Immunität keine so nennenswerte Rolle wie bei zyklischen Infektionskrankheiten. Die Antikörperbestimmung nach einer oralen Impfung gegenüber E.coli diente deshalb hauptsächlich als Nachweis, daß der Impfling sich mit dem Antigen auseinandergesetzt hat. Diese Frage ist aber eindrucksvoller durch die Errechnung des prozentualen Anteils der Ferkel mit positiven Antikörpertitern zu beantworten als durch die jeweilige Bestimmung der Höhe der Antikörpertiter. Wie aus der Abb. 4 hervorgeht, war vor der Immunisierung im Falle des O 8-Antigens ein Anteil von über 90 % und beim O 139-Antigen von über 70 % der Ferkel mit positiven Titern zu errechnen. Am 5. Tag waren jedoch Unterschiede zwischen den geimpften und nichtgeimpften Tieren festzustellen. Während bei der O 8-Gruppe die Impflinge um ein Drittel häufiger serologisch positiv reagierten als bei den entsprechenden Kontrollen, war das Verhältnis bei der O 139-Gruppe umgekehrt. Hier hatten sogar häufiger die Kontrolltiere positive Titer als die Impflinge. Ein eindeutiger Vorteil zugunsten der geimpften Ferkel ergab sich erst ab dem 10. Tag. Keines der Kontrolltiere zeigte am 10. Lebenstag einen positiven Titer. Dagegen waren 67 % der mit Impfstamm O 8 und 34 %

der mit O 139-Antigen oral geimpften Ferkel seropositiv. Bis zum 20. Tag sanken die Prozentzahlen der Impflinge mit positiven Titern auf 42 % bzw. 17 % herab. Die Kontrolltiere lagen zu diesem Zeitpunkt beim O 8-Antigen bei 33 % und beim O 139-Antigen bei 0 Prozent. Am 30. Tag, also 20 Tage nach der letzten Impfung, nahm sowohl bei Impflingen als auch bei Kontrolltieren der Anteil der positiven Ferkel wieder zu und zwar bei den Impflingen deutlich in stärkerem Umfang als bei den Kontrollen.

Diese Ergebnisse verdeutlichen die Unterschiede zwischen oral geimpften und nichtgeimpften Ferkeln noch prägnanter als die Aufzeichnungen über die Höhe der Antikörpertiter. Auch hier trat erst ab dem 10. Lebenstag ein Vorteil der Impflinge hervor. Der Anteil der Ferkel mit positiven Titern lag von diesem Zeitpunkt an bei den oral geimpften Ferkeln signifikant höher als bei den Kontrolltieren.

Abb. 2

Mittlerer O-Antikörpertiter bei Ferkeln nach einer oralen Immunisierung mit einem E.coli O 139 - Antigen innerhalb der ersten 10 Lebenstage

	ANTIKÖRPERTITER (geometrisches Mittel)				
	vor d. Impf. (12 ^h p.p.)	5.Tag	10.Tag	20.Tag	30.Tag
Impflinge (64 Tiere)	1:14	1:3	1:2	1:1,2	1:2,3
Kontrollen (32 Tiere)	1:10	1:3,7	0	0	1:1,5

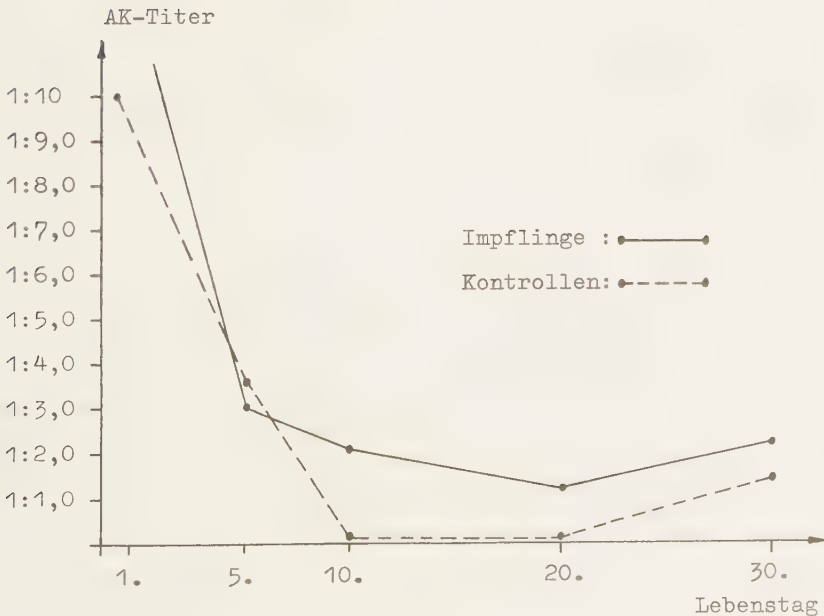
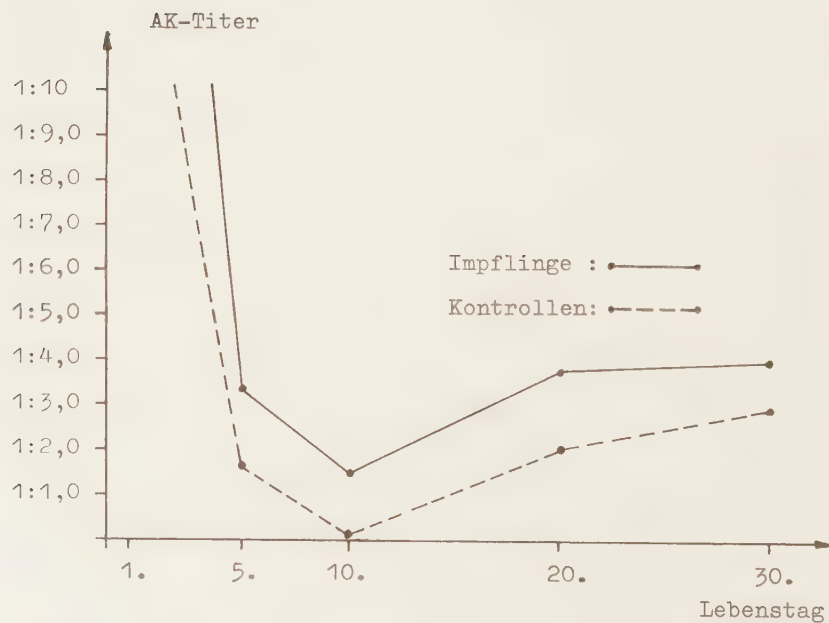


Abb. 3

Mittlerer O-Antikörpertiter bei Ferkeln nach einer oralen Immunisierung mit einem E.coli 0 8 - Antigen innerhalb der ersten 10 Lebenstage

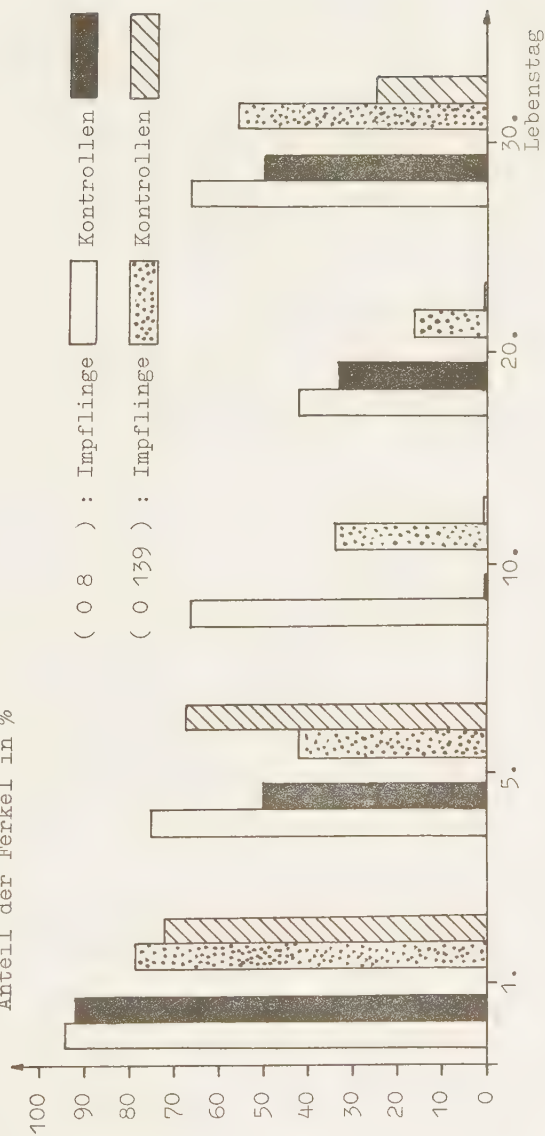
	ANTIKÖRPERTITER (geometrisches Mittel)				
	vor d. Impf. (12 ^h p.p.)	5.Tag	10.Tag	20.Tag	30.Tag
Impflinge (49 Tiere)	1:35	1:3,4	1:1,6	1:3,8	1:4
Kontrollen (25 Tiere)	1:18	1:1,7	0	1:2	1:2,9



Prozentualer Anteil der seropositiven Ferkel nach oraler Immunisierung mit verschiedenen E.coli-Antigenen innerhalb der ersten 10 Lebenstage

Status der Ferkel	Impfstoff	Anzahl d. Tiere	vor d. Impf. (12 ^h p.p.)	5.Tag	10.Tag	20.Tag	30.Tag
Impflinge	0 8	49	94	75	67	42	67
Kontrollen	-	25	92	50	0	33	50
Impfling	0 139	64	78	42	34	17	56
Kontrollen	-	32	72	66,7	0	0	25

Anteil der Ferkel in %



4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Untersuchungen sollten prüfen, ob eine orale Immunisierung auch bei neugeborenen Tieren die Antikörperbildung stimuliert. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß Ferkel nach der oralen Verabreichung eines E.coli-Antigens an den ersten zehn Lebenstagen spezifische O-Antikörper bilden. 67 % der oral geimpften Tiere zeigten am 10. Lebenstag spezifische Antikörper gegen den Impfstamm, dagegen waren bei keinem der nichtgeimpften Kontrolltiere Antikörper feststellbar.

Vergleichbare serologische Untersuchungen nach einer oralen Immunisierung in der Neugeborenenphase wurden bislang in der Literatur nicht beschrieben, sondern nur nach parenteraler Antigenapplikation (56). Interessant in diesem Zusammenhang sind aber die Ergebnisse von LODINOVA et al. (49), die Ansiedlungsversuche mit lebenden E.coli-Bakterien durchführten. Sie verabreichten Säuglingen 2 Stunden nach der Geburt, und dann 4 Wochen lang pro Woche an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, lebende E.coli O 83-Keime. Am 14. Lebenstag konnten sie bei den so vorbehandelten Säuglingen spezifische O-Antikörper feststellen. Die erreichten Durchschnittstitern lagen dabei aber deutlich über unseren Werten. Die Ursache hierfür ist entweder auf die unterschiedlichen E.coli-Stämme zurückzuführen, denn es ist bekannt, daß die Antigenität von Serotyp zu Serotyp stark variiert oder auf die verschiedenen Antigene. Wir immunisierten mit einem hitzeinaktiviertem

E.coli-Vollantigen, während LODINOVA et al. (49) lebende E.coli-Bakterien oral verabreichten. Letzterer Grund dürfte aber nach KOCH et al. (44) keine so große Rolle spielen. Sie haben festgestellt, daß kein Unterschied in der Antikörperstimulierung zwischen der oralen Immunisierung mit einem hitzeinaktiviertem E.coli-Antigen und der mit einer Lebendvakzine besteht.

Für den Ablauf der E.coli-Erkrankungen ist hauptsächlich die lokale Immunität im Dünndarm ausschlaggebend und weniger der O-Antikörpertiter im Serum. Auch besteht keine Korrelation zwischen humoralem Antikörpertiter und der Stärke der lokalen Immunität. Aus diesem Grund wurde der Höhe des Antikörpertiters im Serum keine so große Bedeutung beigemessen. Es kam vielmehr darauf an durch die Bestimmung des O-Antikörpertiters festzustellen, ob sich das neugeborene Ferkel mit dem an den ersten zehn Lebenstagen oral gegebenem Coliantigen überhaupt immunologisch auseinandersetzt. Dies konnte mit der vorliegenden Untersuchung bewiesen werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Neugeborene Ferkel wurden innerhalb der ersten zehn Lebenstage einmal täglich oral gegen E.coli-Erkrankungen geimpft und anschließend 30 Tage lang auf Antikörper untersucht. Als Impfstoff dienten die durch Kurzzeiterhitzung inaktivierte E.coli-Antigene O 8 : K 87, 88 : H 19 und O 139 : K 82. Zur Bestimmung der O-Antikörper wurde die indirekte Hämagglutination verwendet.

67 % der mit O 8-Antigen und 34 % der mit O 139-Antigen oral immunisierten Ferkel hatten am 10. Lebenstag spezifische Antikörper im Serum, dagegen keines der ungeimpften Kontrolltiere. Am 20. und 30. Lebenstag lag der Anteil der Ferkel mit positiven Titern bei den Impflingen um ein Drittel höher als bei den nichtgeimpften Ferkeln. Die erreichten Durchschnittstitern lagen in sehr niedrigen Bereichen, und zwar zwischen 1 : 2 (O 139) bzw. 1 : 1,6 (O 8) am 10. Tag und 1 : 2,3 (O 139) bzw. 1 : 4 (O 8) am 30. Tag.

SUMMARY

Newborn piglets were immunised orally once daily during their first 10 days of life against E.coli-diseases and finally examined for 30 days for antibodies. Inactivated E.coli antigens O 8 : K 87, 88 : H 19 and O 139 : K 82, heated shortly, served as vaccine. Indirect haemagglutination was employed to determine the O antibodies.

67 % of the piglets orally immunised with O 8 antigen and 34 % of those immunised with O 139 antigen had specific antibodies in the serum, on the tenth day of life, as opposed to the non-vaccinated control animals, which had none. On the 20th and 30th day of life, the proportion of piglets with positive titers amongst those vaccinated amounted to one third more than by the non-vaccinated piglets. The average titers attained were very low, viz. between 1 : 2 (O 139) and 1 : 1,6 (O 8) on the tenth day and 1 : 2,3 (O 139) and 1 : 4 (O 8) on the thirtieth day.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Agarwal, S.C., Experimental oral immunization with
N.K. Ganguly L-forms of vibrio cholerae
Infect.Immun. 5, 31 (1972)
2. Agarwal, S.C., Oral immunization with L-forms of vi-
N.K. Ganguly brio cholerae in human volunteers
Infect.Immun. 6, 17 (1972)
3. Baxi, K.K., Untersuchungen über die Antigenstruk-
H. Blobel tur von Pasteurella multocida
W. Scharman Zbl.Vet.Med. B 17, 29 (1970)
4. Bertarelli, E. Über aktive und passive Immunisation
der Neugeborenen und Säuglinge auf
dem Wege der Verdauungsorgane
Zbl.Bakt.I.Orig. 39, 285 (1905)
5. Besredka, A. De la vaccination contre la dysenterie
par la voie buccale
C.R.Ac.Sci. 167, 242 (1918)
6. Besredka, A. Du mécanisme de l'infection dysentérique
de la vaccination contre la dysenterie
par la voie buccale et de la nature de
l'immunité antidysentérique
Ann.Inst.Pasteur 33, 301 (1919)
7. Breuel, H.P. Lokale Immunisierung mit nichtvermeh-
rungsfähigen Mikroorganismen oder ihren
Antigenen
Literaturdokumentation, Reihe 4
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1969)

8. Brodhage, H. Harnstoff-Extrakte aus grammnegativen
Bakterien in der indirekten
Hämagglutination
Z.Hyg. 148, 94 (1961/62)
9. Burke, V., Typhoid vaccination by mouth
L.V. Barnes J.infect.Dis. 39, 67 (1926)
10. Burrows. W., Studies on immunity to asiatic cholera
I. Havens V. The absorption of immune globulin
from the bowel on its excretion in the
urine and feces of experimental animals
and human volunteers
J.infect.Dis. 82, 231 (1948)
11. Casotti, O. Sulla vaccinazione antitifo-paratifica
per via orale
Giorn.Batter. 24, 80 (1940)
Zbl.Bakt.I.Ref. 139, 109 (1941)
12. Chvostek, F. Zur Frage der Immunisierung per os
Wien.Klin.Ws. 14, 453 (1908)
13. Combiesco, D., Vaccination préventive contre la dysen-
A. Magheru terie par la voie digestive chez le
G. Calalb lapin
C.R.Soc.Biol. 88, 904 (1923)
14. Combiesco, D., Recherches sur le mécanisme de la vacci-
Brauner nation par voie buccale contre la dysen-
terie chez le lapin
C.R.Soc.Biol. 97, 1004 (1927)
15. Grimm, P.D., Study of oral typhoid vaccination as
D.M. Short measured by blood serum agglutinins
Am.J.med.Sci. 196, 826 (1938)

16. de Mello, F.,
E. de Nornha
L'épreuve des agglutinines dans la vaccination per os par les bilivaccins antityphiques
C.R.Soc.Biol. 101, 393 (1929)
17. Dempe, H.
Per orale Immunisierung mit abgetöteten Krankheitserregern bei jungen und erwachsenen Säugetieren und Vögeln
Z.Hyg. 112, 80 (1931)
18. Dimitriadis, I.,
W. Bisping
Versuche zur oralen Immunisierung von Hühnern mit hitzeinaktivierten Salmonella-Vakzine. 2. Mitt.: Serologische Untersuchungen zum Auftreten von Antikörpern und eines "booster"-Effektes
Zbl.Vet.Med. B 18, 337 (1971)
19. Engelhardt, W.E.,
J.Ch. Ray
Zur Frage der oralen Immunisierung gegen Cholera
Z.Hyg. 107, 663 (1927)
20. Epstein, St.
Les tests sérologiques de la vaccination "per os"
Rê.Med. 55, 504 (1938)
Zbl.ges.Hyg. 43, 678 (1939)
21. Fagraeus, A.,
A. Espmark
Use of a "mixed haemadsorption" method in virus-infected tissue cultures
Nature (London) 190, 370 (1961)
22. Finger, H.,
H. Seeliger
H. Schmidt
Wird die Widal-Reaktion auf Typhus und Paratyphus durch die orale Aufnahme von größeren Mengen abgetöteter Salmonellen beeinflusst
D.med.Ws. 1967, 887

23. Freter, R. Detection of coproantibody and its formation after parenteral and oral immunization of human volunteers
J.infect.Dis. 11, 37 (1962)
24. Fulton, M.N., Agglutinations reactions in rabbits following oral vaccination with bac. dysenteriae
G.P. Berry
Am.J.Dis.Childr. 33, 714 (1927)
Zbl.ges.Hyg. 16, 121 (1928)
25. Gabritschewski Über die Frage der Vaccination (Immunisation) der Tiere und des Menschen durch den Digestionstraktus gegen Cholera, Abdominaltyphus und Dysenterie
Sitzung v. 17. April 1904 der Sektion für Bakteriologie d. kaiserl. Ges. f. Naturkunde, Anthropologie und Ethnologie in Moskau
Zbl.Bakt.I.Ref. 36, 24 (1905)
26. Gauthier, A. Essais de vaccinations et de vaccinothérapie par la voie buccale contre la dysenterie bacillaire
Rev. d'hyg. 46, 323 (1924)
Zbl.ges.Hyg. 9, 170 (1925)
27. Glotoff, E. De l'immunisation contre le choléra par voie buccale
C.R.Soc.Biol. 89, 368 (1923)
28. Gwan, O.S. Recherches sur l'immunité anticoli-bacillaire (Premier memoire)
Z. Immun.Forsch. 93, 248 (1938)

29. Gwan, O.S. Recherches sur l'immunité anticoli-bacillaire (Deuxième memoire)
Z.Immun.Forsch. 93, 278 (1938)
30. Hering, L., Der Nachweis von Antikörpern gegen Dyspepsiecoli-Bakterien mit dem Verfahren der gemischten Haemadsorptionsreaktion nach FAGRAEUS
H. Mochmann
Z.Immun.Forsch. 136, 440 (1968)
31. Hida, O., Aktive Immunisierung per os
H. Toyoda
Saikingaku-Zasshi 1907, 138
Zbl.Bakt.I.Ref. 42, 418 (1909)
32. Hoffstadt, R.E Immunological studies of typhoid vaccination by mouth. 1. Agglutinins formed in persons treated orally with triple typhoid bacterin
R.L. Thompson
J.Bact. 17, 4 (1929)
33. Hoffstadt, R.E., Immunological studies of typhoid vaccination by mouth. 2. Complement fixations and precipitin reactions in persons treated orally with bile an triple typhoid bacterin
R.L. Thompson
J.Bact. 17, 41 (1929)
34. Hoffstadt, R.E., Immunological studies of typhoid vaccination by mouth. 3. Agglutinins and complement fixation reactions formed in persons treated with typhoid bacterin in capsule
C.E. Martin
J.Bact. 17, 42 (1929)

35. Horowitz-
Wlassow, L.M.,
E.A. Pirojnikowa
Contribution à l'étude de la vaccination anticholérique par voie buccale
Ann.Inst.Pasteur 40, 727 (1926)
36. Horowitz-
Wlassowa, L.M.,
E.A. Pirojnikowa
De la vaccination contre le choléra par la voie buccale
C.R.Soc.Biol. 94, 1067 (1926)
37. Hoshi, N.
Local immunization in rabbits by oral methods (II. Report)
Journ.oriental Med. 11, 107 (1929)
Zbl.ges.Hyg. 22, 45 (1930)
38. Ingram, D.G.,
M.E. Malcomson
Antibodies to Escherichia coli in young calves: O Antigens
Am.J.Vet.Res. 31, 61 (1970)
39. Istrati, G.,
V. Stefănescu
Présence d'agglutinines dans la circulation après vaccination par voie buccale
C.R.Soc.Biol. 105, 912 (1930)
40. Jantria, E.
La vaccinazione antitifica per via orale con antigeni del bacillo del tifo disintegrati
Boll.Ist.sieroter.mil. 17, 160 (1938)
Zbl.ges.Hyg. 42, 160 (1938)
41. Karolček, J.,
M. Rusinko
M. Draškovićova
M. Mikulková
L. Bäteerová
D. Lužová
Allgemeine Immunitätsreaktionen bei Menschen nach Anwendung von einem Typhus-Enterimpfstoff
Zbl.Bakt.I.Orig. 197, 224 (1965)
42. Klemperer, G.
Weitere Untersuchung über Schutzimpfung des Menschen gegen asiatische Cholera
Berl.klin.Ws. 29, 1265 (1892)

43. Klüchin, S.,
G. Vigodtschikoff Experimentelle Bewertung der Chole-
ra-vaccinationsmethode per os
Zbl.Bakt.I.Orig. 94, 6 (1925)
44. Koch, H.,
K. Linde
M. Kittlick
A. Stelzner Untersuchungen zur oralen Immunisie-
rung gegen Coli-Enteritis mit Strepto-
mycin-dependenten Coli-Keimen
II.Mitt.: Vergleich der Wirksamkeit von
Impfstoffen aus lebenden Streptomycin-
dependenten und abgetöteten EC-0111 B4-
Bakterien durch Prüfung der Agglutinin-
bildung bei Mäusen und Kaninchen, der
Bakterizidie von Kaninchenseren und des
passiven Schutzversuches an Mäusen
Zbl.Bakt.I.Orig. 211, 466 (1969)
45. Kosmodemjanski, W.N. Vaccination per os gegen Paratyphus B
Z.Immun.Forsch. 64, 16 (1929)
46. Lietz, B.,
H. Raetting Orale Immunisierung mit nichtvermeh-
rungsfähigen Mikroorganismen oder ihren
Antigenen
5. Mitt.: Tierversuche zur Schutzimpfung
gegen Dyspepsiecoli-Infektionen
Zbl.Bakt.I.Orig. 204, 543 (1967)
47. Lietz, B. Orale Impfung mit inaktivierten Dyspep-
siecoli-Bakterien bei Mensch und Tier
Inaug.Diss., Berlin 1969
48. Lodenkämper, H. Über das Problem der oralen Immunisie-
rung
Wien.med.Ws. 1964, 860

49. Lodinová, R.,
V. Jouja
Experimentelle Besiedlung des Darmtrak-
tes von Neugeborenen mit dem E.coli-Typ
O 83 und Untersuchungen über die Bildung
von Antikörpern
Z.Immun.Forsch. 133, 229 (1967)
50. Loeffler, F.
Über die Immunisierung per os
v.Leuthold-Gedenkschrift I, 247 (1906)
51. Masaki, S.
Du mécanisme de l'infection cholérique
et de la vaccination contre le choléra
par la voie buccale
Ann.Inst.Pasteur 36, 399 (1922)
52. Mel, D.M.,
R.G. Papo
A.L. Terzin
L. Vukšić
Studies on vaccination against bacilla-
ry dysentery. 2. Safety tests and re-
actogenicity studies on a live dysente-
ry vaccine intended for use in field
trials
Bull.Wld.Hlth.Org. 32, 637 (1965)
53. Mochmann, H.,
H.W. Ocklitz
E.F. Schmidt
L. Hering
I. Markuse
Laboratoriumsversuche über die Möglich-
keiten einer oralen Immunisierung mit
einem Natriumdesoxycholot-Extrakt aus
dyspepsiecoli-Stämmen
II.Mitt.: Immunbiologische Eigenschaften.
Die Antikörperbildung im Versuchstier
und passiver Schutzversuch
Zbl.Bakt.I.Orig. 203, 307 (1967)
54. Mochmann, H.,
H.W. Ocklitz
E.F. Schmidt
L. Hering
I. Milleck
Laboratoriumsversuche über die Möglich-
keiten einer oralen Immunisierung mit
einem Natriumdesoxycholot-Extrakt aus
Dyspepsiecoli-Stämmen
III.Mitt.: Die Schutzwirkung des Extrak-

- tes im aktiven Mäuseschutzversuch
Zbl.Bakt.I.Orig. 203, 314 (1967)
55. Mochmann, H.,
H.W. Ocklitz
E.F. Schmidt
U. Richter
L. Hering
Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natriumdesoxycholat-Extrakt aus Dyspepsiecoli-Stämmen
VII.Mitt.: Serumantikörper in der indirekten Hämagglutinationsreaktion bei immunisierten und belasteten Mäusen
Zbl.Bakt.I.Orig. 208, 58 (1968)
56. Möhlmann, H.,
H. Schützler
Untersuchungen zur aktiven Immunisierung von neugeborenen und jungen Kälbern
1. Mitt.: Prüfung der Antikörperreaktion nach Tetatoxoid-Applikation bei Kälbern von nicht spezifisch vorbehandelten Muttertieren
Mh.Vet.Med. 27, 41 (1972)
57. Mrugowsky, J.
Zur Frage der zellulären Immunität beim Menschen nach peroraler Immunisierung
Z.Immun.Forsch. 102, 153 (1943)
58. Neter, E.,
O. Westphal
O. Lüderitz
E.A. Gorzynski
The bacterial hemagglutination test for the demonstration of antibodies to enterobacteriaceae
Ann.N.Y.Acad.Sci. 66, 141 (1956)
59. Parvis, D.
Attività fagocitaria e agglutinatione specifiche tardive in vaccinati per via orale contro il tifo
Giorn.Batter. 22, 268 (1939)
Zbl.Bakt.I.Ref. 136, 422 (1940)

60. Petrov, M. Zur Antikörperbildung bei der Darmvaccination
Vestn.Mikrobiol.(Moskau) 8, 419 (1929)
Zbl.ges.Hyg. 24, 726 (1931)
61. Pijper, A.,
H. Dau Typhoid agglutination after oral immunisation
Br.J.Exp.Path. 11, 112 (1930)
Zbl.ges.Hyg. 22, 644 (1930)
62. Piringer, W.A. Orale Immunisierung weißer Mäuse durch Dyspepsiecoli
Zbl.Bakt.I.Orig. 196, 463 (1965)
63. Porter, P.,
R. Kenworthy
D.W. Holme
S. Horsfield E.coli antigens as dietary additives for oral immunisation of pigs: with pig creep feeds
Vet.Rec. 92, 630 (1973)
64. Ocklitz, H.W.,
H. Mochmann
L. Hering
E.F. Schmidt
U. Richter Laboratoriumsversuche über die Möglichkeiten einer oralen Immunisierung mit einem Natriumdesoxycholat-Extrakt aus Dyspepsiecoli-Stämmen
VIII.Mitt.: Serumantikörper in der gemischten Hämadsorptionsreaktion nach Fagraeus bei immunisierten und belasteten Mäusen
Zbl.Bakt.I.Orig. 209, 161 (1969)
65. Ornstein, O. Zur Immunisierung gegen Mäusetyphus durch Fütterung
Z.Hyg. 96, 48 (1922)
66. Otten, L.,
L. Kirschner Orale vaccinatie tegen bacillaire dysenterie
Geneesk.Tijdschr.v.Nederl.Ind. 65, 608 (1925)

Zbl.ges.Hyg. 12, 305 (1927)

67. Otten, L.,
L. Kirschner
Über enterale und parenterale Immunisierung gegen bacilläre Dysenterie (Shiga-Kruse)
Z.Hyg. 107, 314 (1927)
68. Ottolenghi, D.,
G. Brotzu
Untersuchungen über die orale Typhus- und Paratyphusimpfung
Z.Immun.Forsch. 65, 195 (1930)
69. Raettig, H.
Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen gegen bakterielle Darminfektionen (Typhus, Paratyphus, Cholera, Ruhr)
Zbl.Bakt.I.Ref. 183, 1 (1962)
70. Raettig, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen
1.Mitt.: Der Grundversuch zur Schutzimpfung der Maus gegen eine Enteritis-Infektion
Zbl.Bakt.I.Orig. 193, 398 (1964)
71. Raettig, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen
3.Mitt.: Dosierung und Impfrhythmus bei der spezifischen Impfung der Maus gegen Salmonellen-Enteritis
Zbl.Bakt.I.Orig. 203, 478 (1967)
72. Raettig, H.,
A. Buse
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen

4.Mitt.: Serumantikörper der Maus nach spezifischer Impfung gegen Salmonellen-Enteritis

Zbl.Bakt.I.Orig. 204, 221 (1967)

73. Raettig, H.

Die Entwicklung der oralen Cholera-schutzimpfung

Zbl.Bakt.I.Ref. 210, 465 (1968)

74. Raettig, H.
A. Buse

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen

10.Mitt.: Serologische Primär- und Sekundärantwort nach oraler Impfung mit *S.typhi murium*-Vollantigen im vergleichenden Tierexperiment

Zbl.Bakt.I.Orig. 214, 216 (1970)

75. Raettig, H.
G. Laudahn
M. Mülling

Immunprophylaxe der Kälbersalmonellose durch orale Impfung mit inaktivierten Bakterien

Fortschr.Vet.Med. Heft 17, 176 (1972)

76. Rauss, K.,
I. Ketyi

Serum- and coproantibodies in mice immunized perorally with shigella flexneri

Z.Immun.Forsch. 127, 37 (1964)

77. Reiter, H.

Versuche über perorale Immunisierung

D.med.Ws. 1926, 946

78. Ruge, H.

Das Verhalten der Agglutinine bei kombinierter peroraler und subkutaner Typhusschutzimpfung

Zbl.Bakt.I.Orig. 124, 276 (1932)

79. Saggese, E. Sul valore comparativo della vaccinazione antitifica per via orale, sottocutanea e mista orale-sottocutanea
Giorn.Batter. 24, 312 (1940)
Zbl.Bakt.I.Ref. 139, 109 (1941)
80. Sawtschenko, J., Versuche einer Immunisation des Menschen gegen Cholera
D. Sabolotny
Zbl.allg.Path. 4, 625 (1893)
81. Soletta, L., Ricerche sperimentale sulla vaccinazione antidissenterica con speciale riguardo all' immunita
C. Grossi
Igiene mod. 1938, 49
Zbl.Bakt.I.Ref. 130, 343 (1938)
82. Ssadow, A.A. Über die Herstellung von alkoholischen Vaccinen für Immunisierung per os
7.Allrussischer Bakt.u.Epid.Kongr.Moskau 1923
Zbl.Bakt.I.Ref. 76, 3 (1924)
83. Stellmacher, W., Die Schluckimpfung in der Veterinärmedizin
W. Müller
Mh.Vet.Med. 20, 370 (1965)
84. Stepanoff-Grigorieff, I.I., Klinische epidemiologische und serologische Befunde, die an Menschen mit der Choleravaccinierung per os (nach BES-REDKA) erzielt wurden
P.W. Iljina
8.Bakt. und Epid.Kongr. Leningrad 1924
Zbl.Bakt.I.Ref. 72, 545 (1925)
85. Vaccarezza, R.F., Agglutinationskraft des Serums bei Personen, die per os gegen Typhus und Paratyphus geimpft wurden
M.L.M. Dalke
A.J. Vaccarezza

S.A. aus Prensa Med.Argentina 8^o 15 S.
(1934)

Zbl.Bakt.I.Ref. 118, 161 (1935)

86. Vlădoianu, I.R.,
G. Dimache
S. Antohi
C. Vlădoianu
O. Zarma
Laboratory tests on the effectiveness
of oral vaccination of young children
against typhoid and paratyphoid A and B
Bull.Wld.Hlth.Org. 32, 37 (1965)
87. Wakulenko, A.
Über die Änderung der spezifischen Ei-
genschaften des Blutes der Tiere bei
Fütterung mit getöteten Mikrobenkultu-
ren.
Zbl.Bakt.I.Ref. 34, 555 (1904)
88. Zeitlin
Vortrag anlässlich der
Sitzung vom 17. April 1904 der Sektion
für Bakteriologie der kaiserlichen Ge-
sellschaft für Naturkunde, Anthropol-
ogie und Ethnologie in Moskau
Zbl.Bakt.I.Ref. 36, 24 (1905)

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. A. Mayr möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und für wertvolle Hinweise danken.

Herzlich danke ich auch Herrn Dr. G. Baljer für die jederzeit gewährte hilfreiche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt der Friedrich-Ebert-Stiftung für die Gewährung der Stipendien, durch die mir Studium und Promotion ermöglicht wurden.

Lebenslauf

Am 14. Januar 1942 wurde ich, Feridun Dagitman, als Sohn des Yusuf Dagitman und seiner Ehefrau Gevher, geb. Kanberi, in Istanbul geboren. Nach 5 Jahren Volksschule trat ich in das Haydarpasa-Gymnasium in Istanbul ein und legte dort 1961 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1962/63 ließ ich mich an der damaligen T.H. München immatrikulieren und arbeitete dann als Bauabrechner bei der Fa. Sager und Woerner. Das Studium der Tiermedizin begann ich im Sommersemester 1968 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Die Tierärztliche Prüfung legte ich 1973 ab.

